

# 中华蜜蜂工蜂蕈形体胚后发育中 神经胶质的形成模式

李兆英<sup>1,2</sup>, 奚耕思<sup>2</sup>

(1. 陕西教育学院生命科学系, 西安 710061; 2. 陕西师范大学生命科学学院, 西安 710062)

**摘要:** 本研究通过形态解剖、免疫组织化学等技术, 对中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 工蜂蕈形体胚后发育中神经胶质的形成过程进行了比较研究。结果表明: 蕈形体中神经胶质增殖的高峰期集中在幼虫发育末期到蛹发育早期; 在工蜂蕈形体的蕈体冠、蕈体柄以及小叶的发育过程中, 神经胶质细胞往往先于神经纤维网出现在特定的区域, 引导神经纤维网的形成。它们一方面规定了神经纤维网的边界和区域, 为神经纤维网提供内部的分隔; 另一方面也为神经纤维的移动提供特定的“路标”和靶向。与神经纤维网相关联的神经胶质的数量的持续增加, 除了神经胶质的分裂增殖外, 还有一部分来自于外部细胞体层的神经胶质的迁入。

**关键词:** 中华蜜蜂; 蕈形体; 胚后发育; 神经胶质

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2008)09-0916-08

## Glial patterning during postembryonic development in the mushroom bodies of the honeybee *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae)

LI Zhao-Ying<sup>1,2</sup>, XI Geng-Si<sup>2</sup> (1. Biology Department, Shaanxi Institute of Education, Xi'an, Shaanxi 710061, China; 2. College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China)

**Abstract:** The characteristics of glial patterns during postembryonic in mushroom body of the honeybee *Apis cerana cerana* were studied based on the method of anatomy and immunohistochemistry (5-bromo-2-deoxyuridine, BrdU immunostaining). The results indicated that glial cells are involved in several functions during the development of the nervous system in the honeybee. In the early larva, a continuous layer of glial cell bodies defines the boundaries of all growing neuropiles. Initially, the neuropiles develop in the absence of any intrinsic glial somata. In the secondary process, glial cells migrate into defined locations in the neuropiles. The combined data from the three brain regions suggest that glial cells can prepattern the neuropilar boundaries and guidance structures for migrating neurons or outgrowing axons. The corresponding increase in the number of neuropile-associated glial cells is most likely due to massive immigrations of glial cells from the cell body rind using neuronal fibres as guidance cues.

**Key words:** *Apis cerana cerana*; mushroom body; postembryonic development; glial cell

蕈形体是昆虫脑中重要的感觉整合中心。在昆虫的嗅觉辨别、求偶调节以及视觉学习等方面都扮演着重要的角色(Klämbt *et al.*, 2001), 而且还参与进攻行为和控制行走灵活性等机械运动的调节。蕈形体位于昆虫的前脑内, 由许多联络神经元组成, 可分为3个神经区——冠区、柄区和根区。根区又由 $\alpha$ 叶和 $\beta$ 叶组成(Jacobs and Goodman, 1989)。神经胶质细胞简称神经胶质(glia), 广泛分布于中枢和周围

神经系统, 具有支持、营养、保护、髓鞘形成、绝缘以及分裂增殖与再生修复等多种作用(Lemke, 2001)。在动物的神经系统发育过程中, 一般包含有神经细胞和神经胶质细胞的产生、细胞的迁移以及自组的过程。

神经胶质的功能之一就是在胚胎形成过程中为神经细胞及其轴突的生长和迁移提供基本的支架。神经胶质之间相互结合, 并同神经细胞相结合, 影响

着神经系统的行为。Hähnlein 和 Bicker(1997)通过组织染色和神经胶质特异核蛋白抗体免疫组织化学技术,描述了神经胶质在意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 幼虫和蛹的脑神经纤维网发育过程中的作用。Therianos 等(1995)和 Boyan 等(1995)分别对果蝇 *Drosophila* 和蝗虫(grasshopper)的脑发育过程中神经细胞和神经胶质之间的关系进行了研究。对其他昆虫种类神经胶质的研究也表明,特殊种类神经胶质会在神经节之间进行迁移(Cantero *et al.*, 1995),并且它们对光感受器感觉细胞轴突有引导作用(Perez and Steller, 1996)。对胚胎中神经胶质的切除,将破坏连合以及腹神经索的纵向途径的构成(Jones *et al.*, 1995; Hidalgo *et al.*, 1995)。

除了支持作用外,神经胶质还有运输营养物质以及分泌生长因子的作用(Woodward *et al.*, 1992)。对果蝇神经胶质缺乏突变种 *gem* 的研究显示,其外周双极神经细胞的树突的形态发育不正常(Jones *et al.*, 1995)。果蝇 *drop-dead* 的突变种表现出缺乏神经胶质,进一步证明了神经胶质在保持神经系统结构完整性中的重要作用(Oland and Tolbert, 1996)。在烟草天蛾嗅觉神经纤维网的发育过程中,神经胶质同嗅叶中的神经纤维球和触角感觉神经纤维的相互作用有关(Steindler, 1993),并且,神经胶质分泌的细胞外因子约束了神经纤维球的边界(Krull *et al.*, 1994)。但是对中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 蕈形体发育过程中神经胶质的模式,国内外还没有人进行过研究。本实验通过形态解剖和免疫组织化学等技术,对中华蜜蜂工蜂蕈形体胚后发育中神经胶质的形成模式进行了比较研究,旨在探讨昆虫脑部发育过程中神经胶质的功能和作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

实验所用中华蜜蜂工蜂的幼虫、蛹和成虫均购自西安大峪中华蜜蜂养殖基地。

### 1.2 组织化学

中华蜜蜂工蜂的幼虫、蛹和成虫用 4% 多聚甲醛 4℃ 固定过夜。成虫小心去除头壳。梯度酒精脱水,二甲苯透明。石蜡包埋,脑部横向或纵向连续切片,切片厚度 5~7 μm,切片裱于涂有多聚赖氨酸的载玻片上,烘干备用。切片脱蜡后复水,HE 染色,Olympus(BX-51)显微镜观察拍照。

### 1.2 BrdU 掺入免疫组织化学

**1.2.1 BrdU 掺入处理:** 对于 5 龄幼虫和蛹,从触角下方直接注射约 3 μL 浓度为 25 mg/mL 的 BrdU(B9002, Sigma);对于 1~4 龄幼虫,用浓度为 25 mg/mL 的 BrdU 混合溶液(水和蜂王浆以 1:1 比例混合)饲喂。BrdU 结合的时间一般为 8 h。

**1.2.2 BrdU 免疫组织化学染色:** 将 BrdU 处理过的脑用 4% 多聚甲醛 4℃ 固定 8 h。梯度酒精脱水,石蜡包埋,横向连续切片,厚度为 7 μm。切片裱于涂有多聚赖氨酸的载玻片上,烘干备用。

切片常规脱蜡至水;抗原修复, PBS 洗 3 次;3% 过氧化氢封闭内源性酶 10 min, TBS 洗 3 次;滴加正常山羊血清封闭液, 37℃ 30 min;滴加小鼠 BrdU 单克隆抗体(1/200)(ab8039, ABCAM), 湿盒中 4℃ 孵育过夜, PBS 洗 3 次。滴加生物素化山羊抗小鼠 IgG, 37℃ 120 min, PBS 洗 3 次;滴加过氧化物酶 37℃ 孵育 30 min, PBS 洗 3 次;DAB 显色后镜检, 中性树胶封片,Olympus(BX-51)显微镜观察拍照。阴性对照以 PBS 代替一抗。

### 1.3 细胞计数

为了评价蕈形体发育过程中神经胶质细胞的情况,对切片上 BrdU 标记的增殖细胞(8 h 掺入)的数量进行计数。计数的范围包括幼虫和蛹发育的各个阶段。通常切片上标记的细胞核的数量同细胞的数量是成比例的,比例系数依赖于切片厚度、细胞大小、形状以及核的方位。校正公式为  $C = t/(t+d)$ , C 是校正数, t 为切片厚度, d 是细胞的直径(Abercrombie, 1946)。每一时间点计数 2~4 只动物的 1~5 个蕈形体,计算其平均数,误差值为标准误(SE)。

## 2 结果

### 2.1 蕈体冠发育过程中的神经胶质

蜜蜂的蕈形体位于前脑背侧,由两个杯状的蕈体冠以及向下延伸的蕈体柄和根部组成。在 2 龄幼虫阶段,蕈形体增殖细胞区刚刚开始形成,在它们的下部,靠近前脑神经纤维网的地方可看到有 BrdU 标记的神经胶质聚集(图版 I : A)。到 3 龄幼虫,蕈体柄已明显出现在增殖细胞群下方,在它的边缘,神经胶质将它们同周围细胞分隔开(图版 I : B)。神经胶质有两种形态:圆形,直径为  $3.8 \pm 0.5 \mu\text{m}$ ;扁长形,直径为  $3.1 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ,而分裂的细胞一般为圆形细胞。这一时期,Kenyon 细胞的轴突束开始伸入前

脑神经纤维网形成 $\alpha$ 叶和 $\beta$ 叶(图版Ⅱ: G, H)。到幼虫发育末期, 神经胶质逐渐向增殖细胞群的两侧移动, 在为蕈体冠的形成作准备(图版Ⅰ: C)。蕈体柄的体积增加, 在前脑神经纤维网内部, 可以看到有很少的几个神经胶质分布在轴突束中(图版Ⅰ: D)。

在前蛹早期, 蕈体冠神经纤维网开始形成。小叶周围处于分裂中的神经胶质的数量逐渐增加(图版Ⅰ: E)。到前蛹发育后期, 蕈体柄的侧面被神经胶质细胞所围绕(图版Ⅰ: F)。蕈体柄和蕈体冠之间有少数的神经胶质。到蛹发育的第1天, 它们的数量逐渐增加, 将蕈体冠和蕈体柄神经纤维网分隔开(图版Ⅰ: G)。到蛹发育的第2天, 随着蕈体冠的逐渐形成, 只在神经纤维网的顶部边缘有少数增殖的神经胶质细胞, 在那里未来将形成蕈体冠的领和唇。两蕈体柄交界处也有分裂的神经胶质的存在(图版Ⅰ: H)。从蛹发育第3天开始, 两个蕈体冠神经纤维网的基环部被向内移动的神经细胞和神经胶质细胞分隔开。BrdU标记的神经胶质依然保留在蕈体冠神经纤维网的顶部边缘。顺着向下延伸的蕈体柄, 有神经胶质分散其中(图版Ⅰ: I)。到第4天时, 蕈体冠特有的唇区、颈区和基环已基本形成, 增殖的神经胶质进一步减少(图版Ⅰ: J)。蛹发育第5天, 蕈体冠的形状已同成虫非常相似, 但在唇区、领区的外侧边缘依然有几个神经胶质细胞在分裂

(图版Ⅰ: K)。到成虫时, 一薄层扁平的或纺锤形的神经胶质将蕈体冠同周围细胞分隔开。在蕈体冠神经纤维网内部, 只有领区和基环之间有神经胶质的分隔。同时, 在蕈体冠和蕈体柄内部, 有少数神经胶质散布其中(图版Ⅰ: L)。

## 2.2 蕈体柄和小叶发育过程中的神经胶质

蕈形体内的Kenyon细胞发出的轴突伸入前脑神经纤维网内, 轴突束在途中分开形成 $\alpha$ 叶和 $\beta$ 叶(图版Ⅱ: I)。工蜂头部纵切片显示,  $\alpha$ 叶和 $\beta$ 叶的分离大约是在2龄和3龄幼虫期间, 刚开始分出的 $\alpha$ 叶呈指状, 向头部的正面前方逐渐延伸(图版Ⅱ: G, H)。在整个幼虫发育期, 这个区域内几乎没有神经胶质。到蛹发育早期,  $\alpha$ 叶和 $\beta$ 叶已成为明显分离的神经纤维束, 由单层的神经胶质细胞将其与周围的神经纤维网分隔开(图版Ⅱ: I)。在内部有神经胶质将其划分成横向和纵向的纤维束(图版Ⅱ: F)。

BrdU标记显示, 在前蛹和蛹发育早期,  $\alpha$ 叶边缘的神经胶质分裂相对旺盛(图版Ⅱ: A, B), 这个时间比 $\beta$ 叶略早一些(图1), 随后增殖细胞逐渐减少(图版Ⅱ: C)。到蛹发育的第3、4天,  $\alpha$ 叶的边缘只剩少量的分裂细胞(图版Ⅱ: D), 到第5天,  $\alpha$ 叶和 $\beta$ 叶内的增殖细胞已完全消失, 但是在此时, 蕈体冠的边缘仍然有少量的细胞在进行分裂(图版Ⅰ: K)。在蛹发育期间,  $\alpha$ 叶和 $\beta$ 叶内部神经胶质的排列显

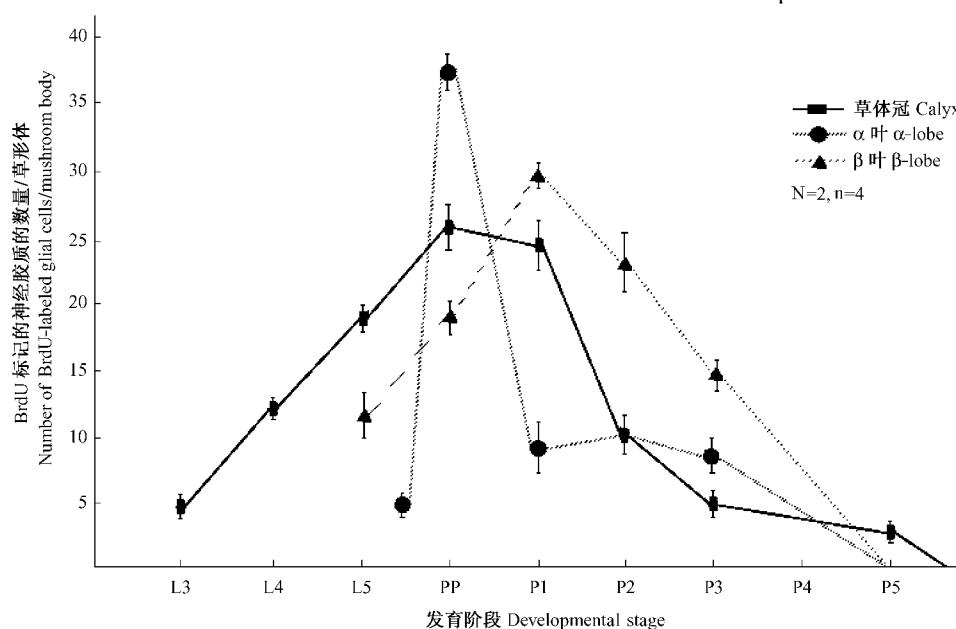


图1 蕈体冠、 $\alpha$ 叶和 $\beta$ 叶中BrdU标记的神经胶质数量变化曲线图

Fig. 1 Number of BrdU-labeled glial in the calyx,  $\alpha$ -lobe, and  $\beta$ -lobe

L3-L5: 幼虫第3-5龄; PP: 前蛹; P1-P5: 蛹期第1-5天; N表示蜜蜂个体数量; n表示细胞群数量。下同。

L3-L5: 3rd-5th instars of larval stage; PP: Prepupa; P1-P5: Day 1-5 of pupal stage; N and n denote the number of bee individuals and the number of cell clusters, respectively. The same below.

示了分层结构(图版Ⅱ: E, F)。

### 3 讨论

#### 3.1 神经胶质和神经元的相互作用

神经胶质广泛地分布于动物的中枢和周围神经系统。其功能之一是约束和调节神经元的生长以及它们的形态,以构成完整的神经回路。生长中的轴突或树突不可能自由的进入某一个区域,神经胶质能够引导并改变它们生长的方向,起到“路标”和靶位点的作用(Hähnlein and Bicker, 1997)。本文对中华蜜蜂蕈形体发育过程的研究表明,无论在蕈体冠还是蕈体柄,神经胶质往往先于那里的神经纤维网而出现在特定的区域,一般聚集在神经纤维网的边缘,它们的分裂增殖速度同该区域神经纤维网的增加速度相一致。从蕈形体发育过程中 BrdU 标记的神经胶质数量变化图(图 1)可以看出,蕈体冠、 $\alpha$  叶和  $\beta$  叶在前蛹发育期到蛹发育早期,神经胶质分裂活动较为活跃,这个时间同蕈形体发育过程中细胞的增殖特点基本一致(李兆英和奚耕思, 2007)。其中  $\alpha$  叶的神经胶质在前蛹期增殖尤为明显,随后分裂细胞数量急剧减少,但一直维持在一个相对稳定的状态,直到蛹发育的第 4 到第 5 天完全消失。而  $\beta$  叶神经胶质的增殖,在 P1 期达到高峰,随后逐渐减少,最后到 P4 或 P5 期,几乎同  $\alpha$  叶同时消失。蕈体冠的神经胶质的增殖,从 PP 期到 P1 期,维持了较长的一段时间, P2 期开始减少。但是分裂的神经胶质消失的时间比  $\alpha$  叶和  $\beta$  叶要稍晚一些,大约在 P5 期之后的 P6 期。

中华蜜蜂蕈形体内的 Kenyon 细胞发出的轴突伸入前脑神经纤维网内,在途中分开形成  $\alpha$  叶和  $\beta$  叶(图版Ⅱ: I),这需要神经胶质细胞在分支点上重新排列形成轴突“分选区”(sorting zone, SZ)(Müller, 1996)。在这里,轴突开始迅速的改变它们移动的朝向,原先聚集在一起的轴突束开始解束并重新排布,同类的轴突聚集并被神经胶质细胞分选进入它们最终的靶位点。在蝗虫神经系统的胚胎发育过程中也有类似的情况(Withers et al., 1995),神经胶质作为“区段边界”,位于中枢神经系统和周围神经系统的转换区域构成“分选区”,当运动轴突和感觉轴突通过的时候,被分选形成适当的神经束(Monsma and Booker, 1996)。在那里有几种类型的神经胶质会对不同的神经细胞联系作出应答(Champlin and Truman, 1998),轴突联系提供了营养信号,并触发神

经胶质细胞的分裂(Mobbs, 1984)。

边界构成的任务同样由神经胶质来完成。在美洲大蠊 *Periplaneta americana* 嗅叶的发育过程中,神经胶质在细胞层和神经纤维网之间形成了有效的边界(Winberg et al., 1992)。类似地,在中华蜜蜂的嗅叶神经纤维网中,神经胶质将其分隔成不同的神经纤维球,避免了轴突之间的相互干扰。另外,神经胶质也为一些区域的神经纤维网提供了内在的分隔,如在中华蜜蜂蕈体柄的  $\alpha$  叶和  $\beta$  叶的分层结构中,都有或多或少的神经胶质散布其中,将其划分成横向和纵向的纤维束。但是有趣的是,至少在胚胎发育的晚期,神经胶质还不是树突的生长和立体架构所必须的(Edwards, 1969)。通过多种手段(Abercrombie, 1946)对神经胶质在昆虫神经系统发育过程中的作用的研究结果都证明了神经胶质在神经纤维网的构筑以及神经纤维移动中的作用。

#### 3.2 神经胶质的迁移

Cayouette 和 Raff (2002)通过对哺乳动物胚胎的形态观察,发现大脑皮层细胞层数的变化而提出中枢神经系统中细胞需要迁移的观点。昆虫的神经系统相对较为简单,为细胞迁移机制的研究提供了良好的实验材料。昆虫的神经中枢在发育过程中,其主要的结构特点是中枢神经纤维网同周围的神经细胞体是分离的(Schuldt et al., 1998)。在昆虫脑部神经纤维网的发育过程中,与神经纤维网相关联的神经胶质的数量在持续增加,除了原有神经胶质的分裂增殖外,还有一部分来自于外部细胞体层神经胶质的迁入,这些神经胶质对迁移中的神经元提供支架,使神经细胞轴突到达预定区域并与其它细胞建立突触连接。

在中华蜜蜂幼虫的发育早期,细胞体层包含有大型的成神经细胞,它们通过有丝分裂形成神经细胞和神经胶质细胞。在最初形成的神经纤维网的边缘已经有圆形和扁平的神经胶质的存在,但是几乎看不到神经胶质细胞的分裂增殖,而 BrdU 标记的分裂细胞在稍后的阶段才会出现,很显然,这其中至少有一些神经胶质细胞是从细胞体层迁移而来的。从所研究的蕈形体发育过程中的神经胶质的模式,明显的说明了神经胶质往往以确定的神经细胞或纤维作为向导进行迁移。如在蕈形体的发育过程中,一部分神经胶质沿着生长中的 Kenyon 细胞的轴突,从它位于蕈体冠下部的出生地一直迁移到它的目的地——中央复合体的腹面。

Hähnlein 和 Bicker(1997)通过神经胶质特异性

抗体免疫组织化学技术, 对中央复合体区域的神经胶质细胞进行了研究, 发现中心体上区、下区、上下区之间的分界线以及小结内的神经胶质细胞数量的快速增加是在蛹发育的第4天之后, 而这个时间恰恰是 BrdU 标记增殖的神经胶质细胞完全消失的时间。这种细胞的增殖同细胞数量增加相背离的情况, 在蕈形体的发育过程中也同样出现, 说明神经胶质数量的增加, 很可能是由其它脑区的神经胶质细胞的迁移所致。当然, 也不排除在这些阶段神经胶质继续进行增殖, 而这种增殖方式是 BrdU 免疫组织化学方法所不能标记的, 这还需要进一步的实验来证明。此外, 对烟草天蛾 *Manduca sexta* 消化道神经系统胚胎发育的研究(Withhöft, 1967), 以及对果蝇的中枢(Fahrbach *et al.*, 1998)和周围神经系统(Hensey and Gautier, 1997)胚后发育过程的研究, 都显示了类似的神经胶质的迁移模式。但是, 由于缺乏对神经胶质的迁移速率以及有丝分裂持续时间的评估资料, 很难对它做出更详细地分析和解释。

## 参 考 文 献 (References)

Abercrombie M, 1946. Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.*, 94: 239–247.

Boyan GS, Williams JLD, Reichert H, 1995. Organization of a midline proliferative cluster in the embryonic brain of the grasshopper. *Roux's Arch. Dev. Biol.*, 205: 45–53.

Cantera R, Thompson KSJ, Hallberg E, Nässel DR, Bacon JP, 1995. Migration of neurons between ganglia in the metamorphosing insect nervous system. *Roux's Arch. Dev. Biol.*, 205: 10–20.

Cayouette M, Raff M, 2002. Asymmetric segregation of Numb: a mechanism for neural specification from *Drosophila* to mammals. *Nat. Neurosci.*, 5(12): 1 265–1 269.

Champlin DT, Truman JW, 1998. Ecdysteroid control of cell proliferation during optic lobe neurogenesis in the moth *Manduca sexta*. *Development*, 125: 269–277.

Edwards JS, 1969. Postembryonic development and regeneration of the insect nervous system. *Adv. Insect Physiol.*, 6: 97–137.

Fahrbach SE, Moore D, Capaldi EA, Farris SM, Robinson GE, 1998. Experience-expectant plasticity in the mushroom bodies of the honeybee. *Learn. Mem.*, 5: 115–123.

Hähnlein I, Bicker G, 1997. Glial patterning during postembryonic development of central neuropiles in the brain of the honeybee. *Dev. Genes Evol.*, 207: 29–41.

Hensey C, Gautier J, 1997. A developmental timer that regulates apoptosis at the onset of gastrulation. *Mech. Dev.*, 69: 183–195.

Hidalgo A, Urban J, Brand AH, 1995. Targeted ablation of glia disrupts axon tract formation in the *Drosophila* CNS. *Development*, 12: 3 703–3 712.

Jacobs JR, Goodman CS, 1989. Embryonic development of axon pathways in the *Drosophila* CNS. I. A glial scaffold appears before the first growth cones. *J. Neurosci.*, 9: 2 402–2 411.

Jones BW, Fetter RD, Tear G, Goodman CS, 1995. Glial cells missing: a genetic switch that controls glial versus neuronal fate. *Cell*, 82: 1 013–1 023.

Klämbt C, Hummel T, Granderath S, Schimmelpfeng K, 2001. Glial cell development in *Drosophila*. *Int. J. Dev. Neuroscience*, 19: 373–378.

Krull CE, Morton DB, Faissner A, Schachner M, Tolbert LP, 1994. Spatiotemporal pattern of expression of tenascin-like molecules in a developing insect olfactory system. *J. Neurobiol.*, 15: 515–534.

Lemke G, 2001. Glial control of neuronal development. *Annu. Rev. Neurosci.*, 24: 87–105.

Li ZY, Xi GS, 2007. Development of the mushroom bodies in *Apis cerana cerana*. *Chinese Journal of Zoology*, 42(2): 46–51. [李兆英, 翁耕思, 2007. 中华蜜蜂蕈形体的发育. 动物学杂志, 42(2): 46–51]

Mobbs PG, 1984. Neural networks in the mushroom bodies of the honeybee. *J. Insect Physiol.*, 30: 43–58.

Monsma SA, Booker R, 1996. Genesis of the adult retina and outer optic lobes of the moth, *Manduca sexta*. I. Patterns of proliferation and cell death. *J. Comp. Neurol.*, 367: 10–20.

Müller U, 1996. Inhibition of nitric oxide synthase impairs a distinct form of long-term memory in the honeybee, *Apis mellifera*. *Neuron*, 16: 541–549.

Oland LA, Tolbert LP, 1996. Multiple factors shape development of olfactory glomeruli: insights from an insect model system. *J. Neurobiol.*, 30: 92–109.

Perez SE, Steller H, 1996. Migration of glial cells into retinal axon target field in *Drosophila melanogaster*. *J. Neurobiol.*, 30: 359–373.

Schuldt AJ, Adams JH, Davidson CM, 1998. Miranda mediates asymmetric protein and RNA localization in the developing nervous system. *Genes Dev.*, 12(12): 1 847–1 857.

Steindler DA, 1993. Glial boundaries in the developing nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.*, 16: 445–470.

Therianos S, Leuzinger S, Hirth F, Goodman CS, Reichert H, 1995. Embryonic development of the *Drosophila* brain: formation of commissural and descending pathway. *Development*, 121: 3 849–3 860.

Winberg ML, Perez SE, Steller H, 1992. Generation and early differentiation of glial cells in the first optic ganglion of *Drosophila melanogaster*. *Development*, 115: 903–911.

Withers GS, Fahrbach SE, Robinson GE, 1995. Effects of experience and juvenile hormone on the organization of the mushroom bodies of honeybees. *J. Neurobiol.*, 26: 130–144.

Withhöft W, 1967. Absolute Anzahl und Verteilung der Zellen im Hirn der Honigbiene. *Z. Morphol. Tiere*, 61: 160–184.

Woodward WR, Nishi R, Meshul CK, Williams TE, Coulombe M, Eckenstein FP, 1992. Nuclear and cytoplasmic localization of basic fibroblast growth factor in astrocytes and CA2 hippocampal neurons. *J. Neurosci.*, 12: 142–152.

### 图版说明 Explanation of Plates

#### 图版 I Plate I

A. BrdU 标记工蜂 L2 的蕈形体, 箭头示增殖细胞群基部的神经胶质。The mushroom bodies during L2, the arrow: BrdU-labeled glial cells.

B. BrdU 标记工蜂 L3 的蕈形体, 蕈体柄开始出现, 粗箭头示圆形的神经胶质, 细箭头示扁长形的神经胶质。The mushroom bodies during L3, the thick arrow: the circular glial; the thin arrow: the flat glials.

C. 工蜂 L4 蕈形体的组织结构, 箭头示聚集在蕈体冠区域的神经胶质。The mushroom bodies during L4, the arrow: mass glials in the calyx.

D. BrdU 标记工蜂 L5 的蕈形体, 箭头示伸入  $\beta$  叶周围的神经胶质。The mushroom bodies during L5, the arrow: round  $\beta$ -lobe glials.

E. BrdU 标记工蜂 PP 早期的蕈形体, 箭头示  $\beta$  叶周围的神经胶质。The mushroom bodies during early prepupa, the arrow: round  $\beta$ -lobe glials.

F. BrdU 标记工蜂 PP 晚期的蕈形体, 箭头示蕈体柄周围的神经胶质。The mushroom bodies during terminal prepupa, the arrow: round pedunculus glials.

G. BrdU 标记工蜂 P1 的蕈形体, 粗箭头示位于蕈体柄和蕈体冠之间的神经胶质, 细箭头示散布在神经纤维网内部的神经胶质。The mushroom bodies on Day 1 of pupa, the thick arrow: the glials between calyx and pedunculus; the thin arrow: the dispersed glials within neuropile.

H. BrdU 标记工蜂 P2 的蕈形体, 粗箭头示神经纤维网顶端的神经胶质, 细箭头示两蕈体柄交界处的神经胶质。The mushroom bodies on Day 2 of pupa, the thick arrow: the BrdU-labeled glials at the point neuropile; the thin arrow: the glials between calyx and pedunculus.

I. BrdU 标记工蜂 P3 的蕈形体, 粗箭头示神经纤维网顶端 BrdU 标记的神经胶质, 细箭头示散布在蕈体柄内的神经胶质。The mushroom bodies on Day 3 of pupa, the thick arrow: the BrdU-labeled glials at the point neuropile; the thin arrow: the dispersed glials within pedunculus.

J. BrdU 标记工蜂 P4 的蕈形体, 箭头示蕈体冠唇区的神经胶质。The mushroom bodies on Day 4 of pupa, the arrow: BrdU-labeled glials in the lip of calyx.

K. BrdU 标记工蜂 P5 的蕈形体, 箭头示的神经胶质。The mushroom bodies on Day 5 of pupa, the arrows: BrdU-labeled glials.

L. 成年工蜂蕈形体的组织结构, 粗箭头示颈和基环之间的神经胶质, 细箭头示散布在蕈体冠和蕈体柄内部的神经胶质。The adult mushroom bodies, the thick arrow: the glials between collar and basal ring; the thin arrow: the dispersed glials within calyx and pedunculus.

标尺 = 50  $\mu\text{m}$ . Scale bar = 50  $\mu\text{m}$ .

#### 图版 II Plate II

A. BrdU 标记工蜂 PP 的  $\alpha$  叶, 箭头示周缘旺盛分裂的神经胶质。The  $\alpha$ -lobe during repupa, the arrows: BrdU-labeled dividing glial cells.

B. BrdU 标记工蜂 P1 的  $\alpha$  叶。The  $\alpha$ -lobe on Day 1 of pupa.

C. BrdU 标记工蜂 P2 的  $\alpha$  叶。The  $\alpha$ -lobe on Day 2 of pupa.

D. BrdU 标记工蜂 P4 的  $\alpha$  叶, 箭头示将  $\alpha$  叶分层的神经胶质。The  $\alpha$ -lobe on Day 4 of pupa, the arrow: the glials within  $\alpha$ -lobe.

E. 成年工蜂  $\alpha$  叶的组织结构, 粗箭头示  $\alpha$  叶边缘的神经胶质, 细箭头示  $\alpha$  叶内部的神经胶质。The  $\alpha$ -lobe on Day 4 of pupa, the arrow: the glials within  $\alpha$ -lobe.

F. 成年工蜂小叶的组织结构, 显示了小叶内部的分层结构。The region march with  $\alpha$ -lobe and  $\beta$ -lobe, showing the layer in lobe.

G. 工蜂 L2 脑部纵切组织结构, 箭头示开始伸出的  $\alpha$  叶。The mushroom bodies during L2, the arrow: the  $\alpha$ -lobe.

H. 工蜂 L3 脑部纵切组织结构, 箭头示伸展中的  $\alpha$  叶。The mushroom bodies during L3, the arrow: the  $\alpha$ -lobe.

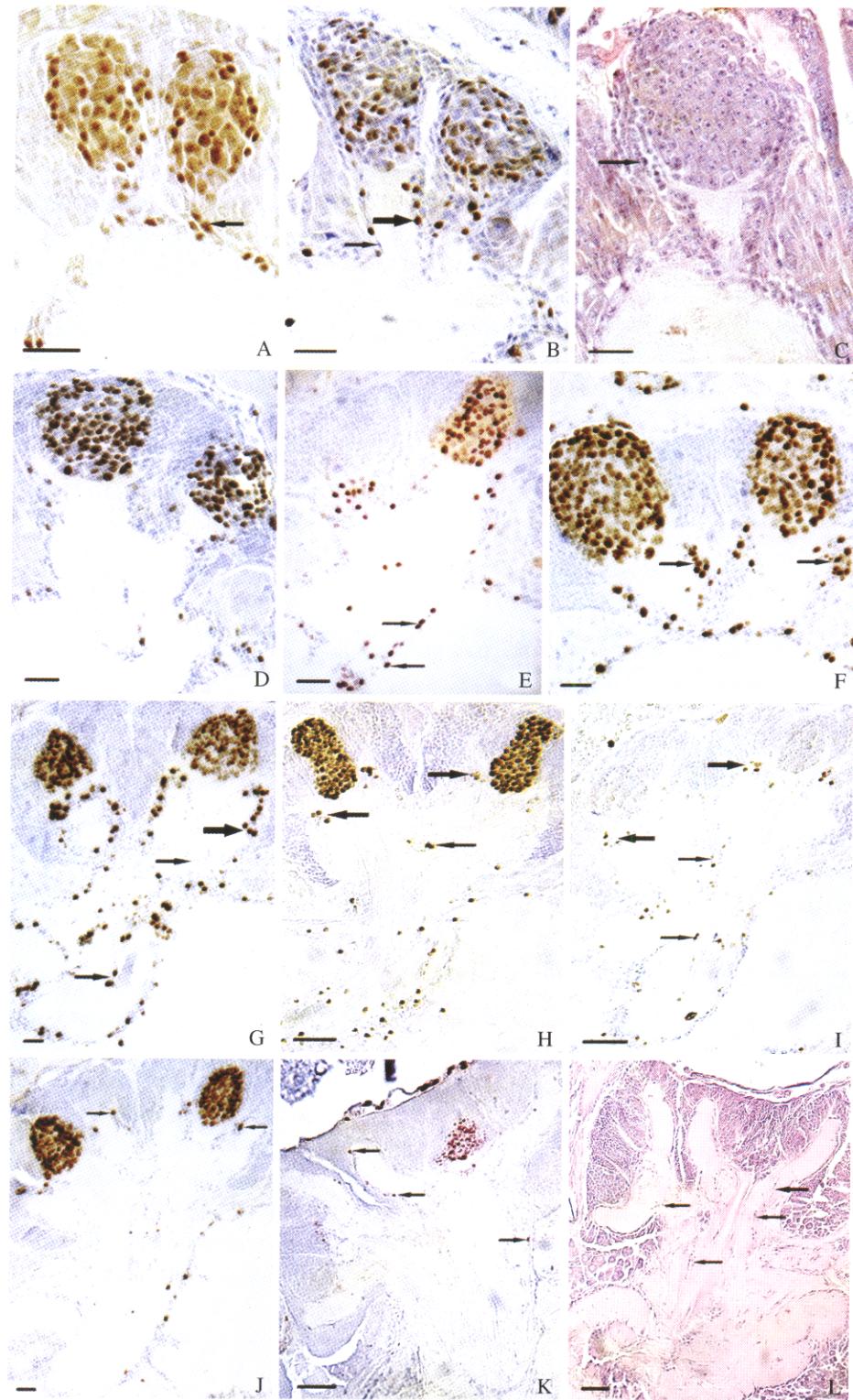
I. 工蜂 P3 脑部纵切组织结构, 粗箭头示  $\alpha$  叶, 细箭头示  $\beta$  叶, 三角示位于小叶边缘的神经胶质。The mushroom bodies on Day 3 of pupa, the thick arrow:  $\alpha$ -lobe; the thin arrow: the  $\beta$ -lobe; the triangle: the glials around the lobe.

标尺 = 50  $\mu\text{m}$ . Scale bar = 50  $\mu\text{m}$ .

李兆英和奚耕思：中华蜜蜂蕈形体胚后发育中神经胶质的形成模式

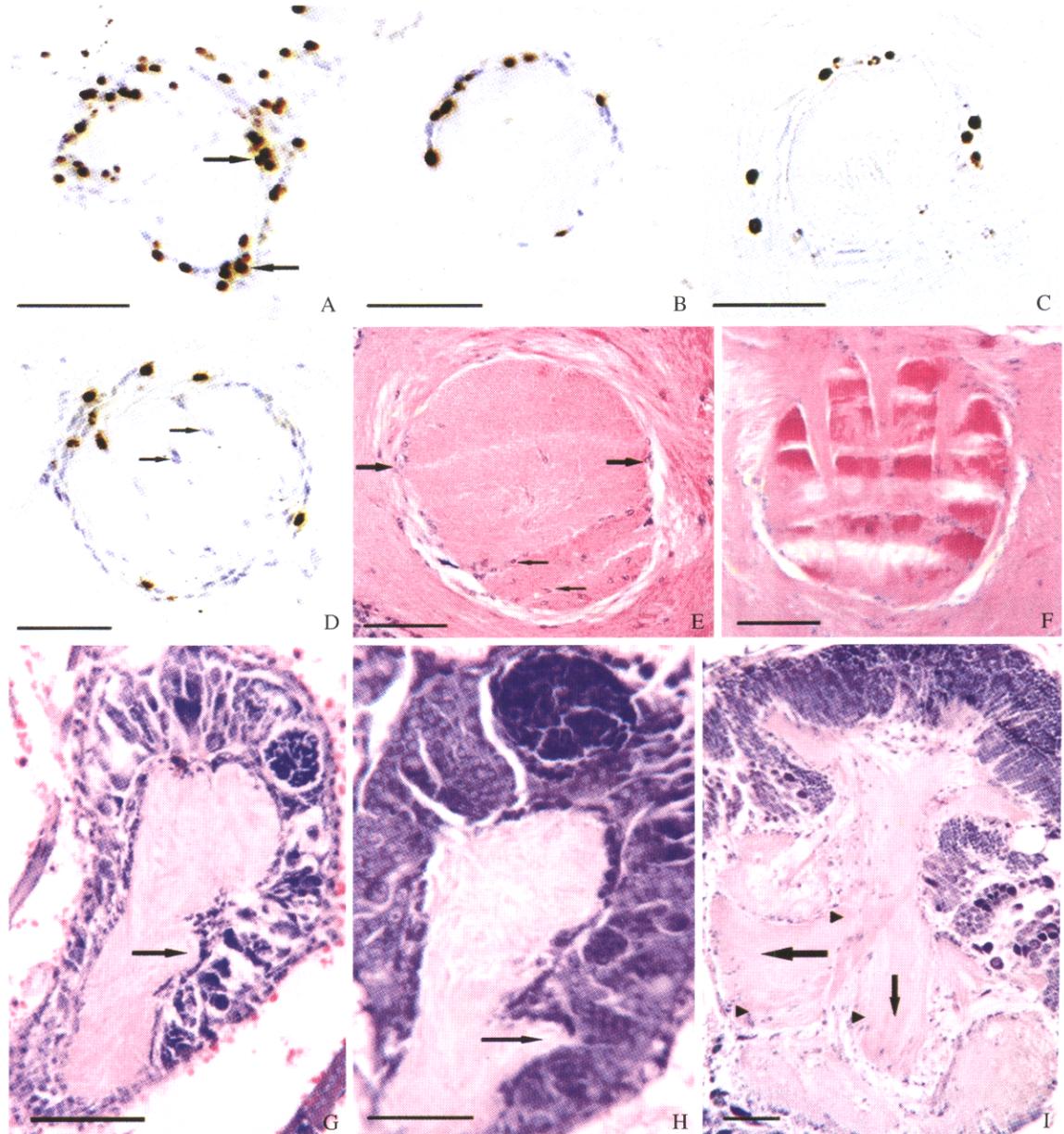
图版 I

LI Zhao-Ying and XI Geng-Si: Glial patterning during postembryonic development in the mushroom bodies of the honeybee *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae) Plate I



图版说明见文后 Explanation at the end of text

李兆英和奚耕思：中华蜜蜂蕈形体胚后发育中神经胶质的形成模式 图版 II  
LI Zhao-Ying and XI Geng-Si: Glial patterning during postembryonic development in the mushroom bodies of the honeybee *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae) Plate II



图版说明见文后 Explanation at the end of text